

Сочетание пробоподготовки QuEChERS и мицеллярной электрокинетической хроматографии при определении неоникотиноидных инсектицидов в овощах и фруктах

Д.С. Большаков^{1*}, В.Г. Амелин^{1,2}, Т.Б. Никешина¹

¹Федеральный центр охраны здоровья животных (ВНИИЗЖ),
600901, Российская Федерация, г. Владимир, мкр. Юрьевец

²Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича
и Николая Григорьевича Столетовых,
600000, Российская Федерация, г. Владимир, ул. Горького, 87

*Адрес для переписки: Большаков Дмитрий Сергеевич, E-mail: bolshakov@arriah.ru

Поступила в редакцию 26 января 2015 г., после исправлений – 23 февраля 2015 г.

Показана возможность электрофоретического разделения и одновременного определения семи неоникотиноидов (имidakлоприда, ацетамиприда, тиаметоксама, тиаклоприда, нитенпирама, клотианидина и динотефурана) методом мицеллярной электрокинетической хроматографии. Предложен способ извлечения и концентрирования неоникотиноидных инсектицидов из овощей и фруктов с использованием дисперсионной твердофазной экстракции QuEChERS. Выбраны оптимальные составы высаливающих смесей для экстракции и сорбентов для очистки полученных экстрактов. Извлечение пестицидов из фруктов проводили ацетонитрилом с использованием смеси цитратов натрия и очисткой 2 мл полученного экстракта смесью 100 мг сорбента PSA и 300 мг безводного сульфата магния. Для анализа овощей в качестве экстрагента применяли этилацетат в присутствии безводного сульфата магния и хлорида натрия, с последующей очисткой 2 мл экстракта 100 мг сорбента PSA и 10 мг графитированной сажи. В оптимальных условиях степени извлечения пестицидов варьируются от 62 до 81 % для фруктов и от 38 до 76 % для овощей. Нижние границы определяемых содержаний пестицидов при массе пробы 10.0 г с учетом концентрирования составили от 0.25 до 0.65 мг/кг и от 0.04 до 0.13 мг/кг для фруктов и овощей соответственно. Относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышает 0.1. Продолжительность анализа – 1-1.5 ч.

Ключевые слова: неоникотиноиды, мицеллярная электрокинетическая хроматография, QuEChERS, овощи, фрукты.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2015, vol. 19, no. 1, pp. 59-68.
DOI: 10.15826/analitika.2015.19.1.003

Combining QuEChERS preparation and micellar electrokinetic chromatography for determination of neonicotinoid insecticides in fruits and vegetables

D.S. Bol'shakov^{1*}, V.G. Amelin^{1,2}, T.B. Nikeshina¹

¹Federal Centre for Animals Health (ARRIAH), Yur'evets, Vladimir, 600901, Russian Federation

²Vladimir State University named after Alexander and Nikolay Stoletovs, Gorky ul., 87, Vladimir,
600000, Russian Federation

*Corresponding author: Dmitrii S. Bol'shakov, E-mail: bolshakov@arriah.ru

Submitted 26 January 2015, received in revised form 23 February 2015

The possibility of electrophoretic separation and simultaneous determination of 7 neonicotinoids (imidacloprid, acetamiprid, thiamethoxam, thiacloprid, nitenpyram, clothianidin and dinotefuran) by micellar electrokinetic chromatography is shown. We propose a method for extracting and concentrating of neonicotinoid insecticides from vegetables and fruits using the sample preparation QuEChERS. The optimum compositions of the salting-out mixtures for extraction and sorbents for purification of the resulting extracts from vegetables and fruits were selected. Extraction of pesticides from the fruits was performed by acetonitrile using a mixture of sodium citrates ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$) with the following clean-up of 2 ml

of the extract with sorbent PSA (100 mg) and anhydrous magnesium sulfate (300 mg). During the analysis of vegetables ethyl acetate was used as an extractant in the presence of anhydrous magnesium sulfate and sodium chloride with the following clean-up of 2 ml of the extract with sorbent PSA (100 mg) and graphitized carbon black (10 mg). In optimal conditions the recovery of the analytes ranged from 62 to 81 % for fruits and from 38 to 76 % for vegetables. The limits of quantification of neonicotinoids with a 10.0 g weight sample were from 0.25 to 0.65 mg·kg⁻¹ and from 0.04 to 0.13 mg·kg⁻¹ for fruits and vegetables respectively. The relative standard deviation of the test results does not exceed 0.1. Duration of analysis is 1-1.5 hr.

Key words: neonicotinoids, micellar electrokinetic chromatography, QuEChERS, vegetables, fruits.

ВВЕДЕНИЕ

Неоникотиноидные инсектициды представляют быстро растущий класс пестицидов, наибольшее распространение среди которых получил имидаклоприд. В настоящее время существует семь коммерческих препаратов: имидаклоприд, ацетамиприд, тиаметоксам, тиаклоприд, нитенпирам, клотианидин и динотефуран (табл. 1). Применение данных препаратов играет важную роль на различных этапах выращивания и хранения сельскохозяйственной продукции. Мониторинг остаточных количеств инсектицидов в пищевых продуктах имеет решающее значение для надлежащей оценки их воздействия на здоровье человека. В табл. 2 приведены максимально допустимые уровни (МДУ) неоникотиноидов в пищевых продуктах, установленные в России и Европейских странах.

Для определения остаточных количеств данных соединений в пищевых продуктах используют иммуноферментный анализ [1, 2], методы высокоэффективной жидкостной и сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии [3] с УФ- [4, 5], диодно-матричным [6, 7] и масс-спектрометрическим [8-11] детектированием. Анализ соков [1, 4], овощей, фруктов [3, 5, 8-11], молока [7] и некоторых других продуктов питания [3, 6] осуществляют после извлечения и концентрирования методом жидкостно-жидкостной [1, 2, 10], твердофазной [3, 6-9, 11] или ультразвуковой экстракции [3]. При этом проводят определение как смесей нескольких неоникотиноидов [3, 5-8], так и их сочетаний с инсектицидами других классов [9, 10]. Однако хроматографические

Таблица 1

Химическая структура и константы кислотности неоникотиноидов

№ п/п	Название	Название по CAS	Структурная формула	pKa
1	Имидаклоприд	(2E)-1-[(6-chloro-3-pyridinyl)-methyl]-N-nitro-2-imidazolidinimine		н/д
2	Ацетамиприд	(1E)-N-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]-N'-cyano-N-methylethanamide		0.7
3	Тиаметоксам	3-[(2-chloro-5-thiazolyl)methyl]tetrahydro-5-methyl-N-nitro-4H-1,3,5-oxadiazin-4-imine		н/д
4	Нитенпирам	(1E)-N-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]-N-ethyl-N'-methyl-2-nitro-1,1-ethenediamine		3.1
5	Клотианидин	[C(E)]-N-[(2-chloro-5-thiazolyl)methyl]-N'-methyl-N'-nitroguanidine		11.1
6	Тиаклоприд	(Z)-[3-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]-2-thiazolidinylidene]cyanamide		н/д
7	Динотефуран	(RS)-N-Methyl-N'-nitro-N''-(tetrahydro-3-furanyl)methylguanidine		12.6

Примечание: н/д – не диссоциирует.

Таблица 2

МДУ неоникотиноидов в овощах и фруктах

Название инсектицида	МДУ в продукции, мг/кг	
	ГН*	ЕС**
Имидаклоприд	Свекла столовая, сахарная, плодовые (семечковые), томаты, картофель, капуста – 0.5; черная смородина – 3.0; огурцы, перец – 1.0; ягоды – 3.0; баклажаны – 0.5	Цитрусовые фрукты – 1.0; семечковые, косточковые плоды – 0.5; виноград – 1.0; клубника – 0.5; свекла, морковь, томаты, картофель – 0.5; огурцы, кабачки – 0.1
Ацетамиприд	Картофель – 0.5; огурцы, томаты – 0.3	Цитрусовые фрукты – 1.0; семечковые плоды – 0.7; виноград – 0.2; клубника – 0.5; свекла, морковь, картофель – 0.01; огурцы, томаты, кабачки – 0.3
Тиаметоксам	Картофель, горчица, свекла сахарная, огурцы, капуста, лук – 0.05; томаты, баклажаны, перец – 0.2; плодовые (семечковые), смородина, виноград – 0.1	Цитрусовые фрукты – 0.2; апельсин – 0.5; орехи – 0.05; семечковые, косточковые плоды – 0.3; виноград, клубника – 0.5; свекла – 0.05; томаты – 0.2; морковь, картофель – 0.3; огурцы, кабачки – 0.5;
Нитенпирам	_***	_***
Клотианидин	Картофель – 0.05; сахарная свекла – 0.1	Цитрусовые фрукты – 0.1; семечковые плоды – 0.05; косточковые плоды – 0.1; виноград – 0.6; морковь, картофель, томаты – 0.05; клубника, свекла, огурцы, кабачки – 0.02
Тиаклоприд	Семечковые плоды – 0.3; виноград – 0.02; ягоды – 1.0	Цитрусовые фрукты – 0.02; семечковые, косточковые плоды – 0.3; виноград – 0.02; клубника – 1.0; свекла, морковь, томаты – 0.05; картофель – 0.02; огурцы, кабачки – 0.3
Динотефуран	_***	_***

Примечания: * – ГН 1.2.2701-10 «Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды (перечень)»; ** – Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the council of 23 february 2005 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC; *** – нет данных.

методы и классические варианты экстракции требуют длительной подготовки пробы с использованием токсичных растворителей, характеризуются сложностью и высокой ценой применяемой аппаратуры.

В последние годы методы капиллярного электрофореза (**КЭ**) широко применяют для определения пестицидов в природных объектах [12, 13]. Вариант мицеллярной электрокинетической хроматографии (**МЭКХ**), основанной на разделении нейтральных и заряженных молекул за счет различной вероятности нахождения их в водной подвижной и псевдостационарной фазах, имеет ряд преимуществ (высокое разрешение, экспрессность и экологичность анализа) перед методами ВЭЖХ. С его помощью проводят определение имидаклоприда [14] и трех неоникотиноидов в присутствии 6-хлорникотиновой кислоты (основного метаболита имидаклоприда) в воде в сочетании с твердофазным концентрированием [15].

В настоящей работе показана возможность применения метода МЭКХ в сочетании с пробоподготовкой QuEChERS (**Quick, Easy, Cheap, Ef-**

fective, Rugged and Safe) [16, 17] для определения семи неоникотиноидов (имидаклоприда, ацетамиприда, тиаметоксама, тиаклоприда, нитенпирама, клотианидина и динотефурана) в овощах и фруктах.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Аппаратура. Электрофоретическое разделение проводили на системе капиллярного электрофореза «Капель-105М» («Люмэкс», Россия), снабженной УФ-детектором, немодифицированным кварцевым капилляром внутренним диаметром 75/50 мкм и эффективной длиной 50/65 см (общая длина 60/75 см). Применяли гидродинамический ввод пробы. Сбор и обработку данных проводили с программным обеспечением «Мультихром» и «Эльфран» (ЗАО «Амперсенд», Россия).

В процессе подготовки проб использовали ультрацентрифугу Mini Spin («Eppendorf», Германия), лабораторную центрифугу ОПН-3М («ПОЛИКОМ», Россия) и низкоскоростную центрифугу Rotanta 460R («HETTICH», Германия).

Реактивы. В работе применяли стандартные образцы индивидуальных пестицидов (Dr. Ehrenstorfer, чистота 98.0 – 99.5 %): тиаметоксама (С 17453000), нитенпирама (С 15535000), ацетамиприда (С 10013000), клотианидина (С 11691700), тиаклоприда (С 17451000), динотефурана (С 12820000), имидаклоприда (С 14283700) и 6-хлорникотиновой кислоты (С 11452000). Растворы 100 мкг/мл готовили растворением соответствующих навесок в ацетонитриле. Рабочие растворы готовили в день использования разбавлением исходных дистиллированной водой.

Использовали додецилсульфат натрия (**ДДСН**) (Merck), ацетонитрил (Prolabo), этилацетат (Prolabo), десятиводный тетраборат натрия (Sigma-Aldrich), фосфат тетрабутиламмония (**ТБА**) (Fluca Analytical), метанол (Fischer Scientific), γ -циклодекстрин (**γ -ЦД**) (Sigma-Aldrich), бидистиллированную воду (ГОСТ 7602-72), безводный сульфат магния (Sigma-Aldrich), натрий хлористый (Sigma-Aldrich), тризамещенный цитрат натрия ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich), двухзамещенный цитрат натрия ($\text{Na}_2\text{HC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich), сорбенты Bondesil-PSA (смесь первичных и вторичных аминов), Discovery DSC-18, Supelclean ENVI-Carb 120/400 (графитированная сажа, **GCB**), Discovery DSC-SAX (Supelco Analytical).

Пробоподготовка. В центрифужную пробирку емкостью 50 мл вносили навеску гомогенизированных овощей или фруктов массой 10 г, добавляли 10 мл ацетонитрила (для овощей 10 мл этилацетата), закрывали пробирку и энергично встряхивали в течение 1 минуты. Затем вносили смесь 4.0 г MgSO_4 , 1.0 г NaCl , 1.0 г $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и 0.5 г $\text{Na}_2\text{HC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ (для фруктов). После внесения солей содержимое пробирок взбалтывали в течение 10 минут и центрифугировали 10 минут при 6000 об./мин., отбирали 3 мл экстракта и переносили в центрифужную пробирку емкостью 15 мл, содержащую 150 мг сорбента Bondesil-PSA, 450 мг MgSO_4 (для фруктов), 15 мг GCB (для овощей). Пробирку энергично встряхивали в течение

1 мин и центрифугировали 10 мин при 2700 об./мин. Отбирали 1.0 (2.0) мл органического слоя в микропробирку, упаривали в токе азота досуха при комнатной температуре, остаток растворяли в 100 мкл дистиллированной воды и проводили электрофоретическое разделение.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Электрофоретическое разделение неоникотиноидов. На выбор конкретного варианта КЭ и условий разделения влияет природа определяемых компонентов. Поскольку неоникотиноидные пестициды в водных растворах не диссоциируют (табл. 1), их разделение проводили методом МЭХХ. При оптимизации условий электрофоретического разделения варьировали состав, pH (7.0–9.5), концентрацию ведущего электролита (5–20 мМ), концентрацию мицеллообразователя (20–30 мМ) и органического растворителя (ацетонитрила, метанола, 5–10 % об.), содержание ион-парного (ТБА) и макроциклического (γ -ЦД) реагентов. Оценено влияние внутреннего диаметра капилляра на эффективность разделения смеси семи неоникотиноидов (табл. 3).

Использование ведущего электролита, состоящего из 10 мМ тетрабората натрия, 30 мМ ДДСН, 10 % об. ацетонитрила обеспечивает наибольшую эффективность разделения смеси неоникотиноидов. Применение капилляра с внутренним диаметром 50 мкм способствовало дополнительному увеличению селективности разделения пестицидов (особенно для пары тиаклоприд – нитенпирам), однако это сопровождалось некоторым увеличением времени электромиграции всех компонентов и уменьшением чувствительности детектирования (рис. 1).

Установлено, что присутствие γ -ЦД (2 мМ) в ведущем электролите не имело существенного влияния на разрешение пиков пестицидов, а применение ион-парного реагента ТБА не позволило провести раздельное детектирование клотианидина и ацетамиприда (табл. 3).

Таблица 3

Влияние состава ведущего электролита и внутреннего диаметра капилляра на эффективность разделения (разрешение R_s и фактор селективности α неоникотиноидов методом МЭХХ)

Диаметр капилляра		75 мкм					50 мкм		
Ведущий электролит		I	II	III	IV	V	I	VI	VII
Тиаклоприд – нитенпирам	R_s	–	–	–	0.38	–	0.78	0.71	–
	α	–	–	–	1.01	–	1.01	1.01	–
Имидаклоприд – клотианидин	R_s	0.76	0.58	–	1.38	0.72	1.67	1.62	1.05
	α	1.02	1.01	–	1.07	1.02	1.02	1.02	1.02
Клотианидин – ацетамиприд	R_s	1.38	0.96	1.16	–	1.19	3.48	3.18	1.80
	α	1.04	1.02	1.05	–	1.03	1.04	1.04	1.03

Примечания: «–» – пики не разделяются. Состав ведущего электролита: I – 10 мМ тетрабората натрия, 30 мМ ДДСН, 10 % об. ацетонитрила; II – 10 мМ тетрабората натрия, 20 мМ ДДСН, 10 % об. ацетонитрила; III – 20 мМ тетрабората натрия, 30 мМ ДДСН, 5 % об. ацетонитрила; IV – 10 мМ тетрабората натрия, 30 мМ ДДСН, 5 мМ ТБА, 10 % об. ацетонитрила; V – 10 мМ тетрабората натрия, 20 мМ ДДСН, 10 % об. метанола; VI – 10 мМ тетрабората натрия, 30 мМ ДДСН, 2 мМ γ -ЦД, 10 % об. ацетонитрила; VII – 5 мМ тетрабората натрия, 25 мМ ДДСН, 10 % об. ацетонитрила (30 °С).

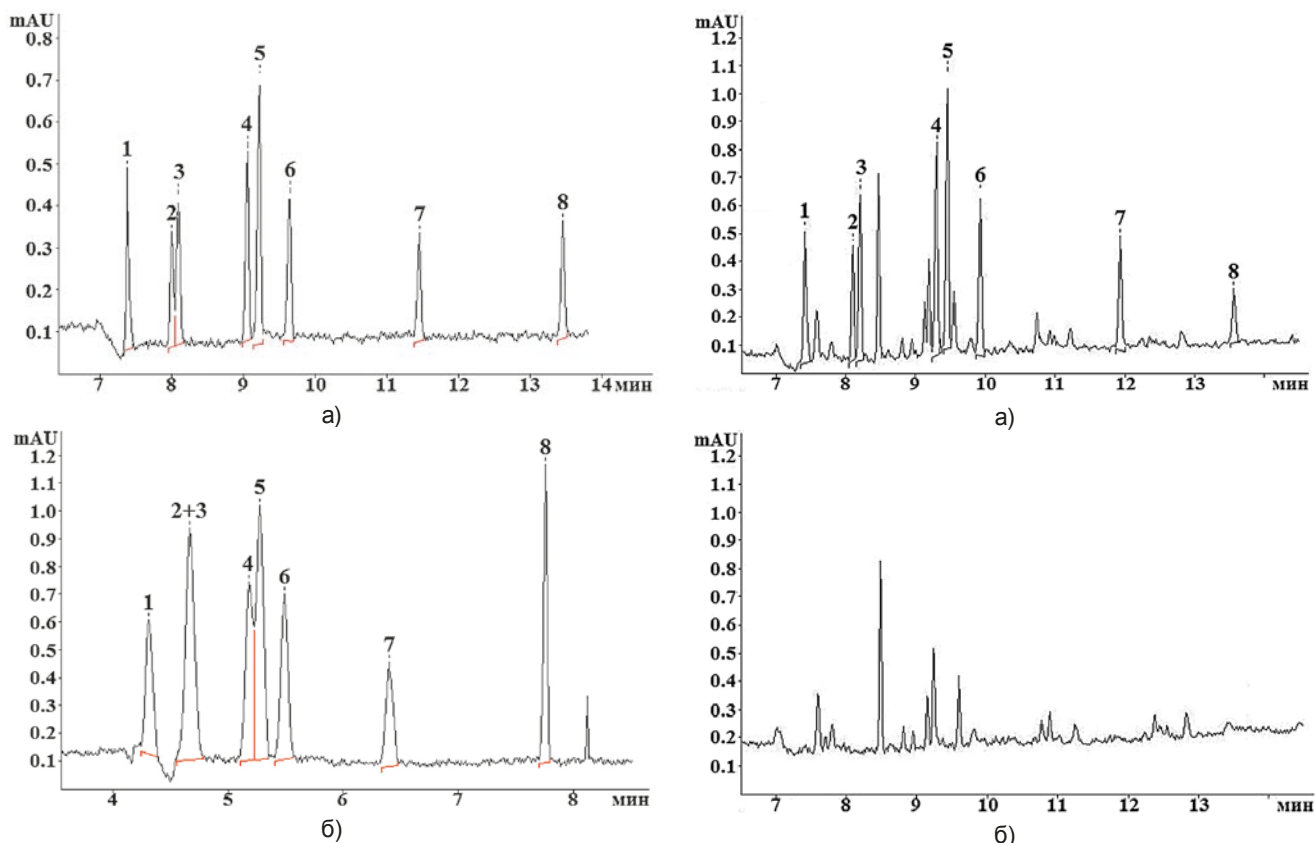


Рис. 1. Электрофореграммы смеси семи неоникотиноидов и 6-хлорникотиновой кислоты: 1 – динотефуран, 2 – нитенпирам, 3 – тиаклоприд, 4 – имидаклоприд, 5 – клотианидин, 6 – ацетамиприд, 7 – тиаметоксам, 8 – 6-хлорникотиновая кислота (условия разделения: кварцевый капилляр, внутренний диаметр 50 (а) и 75 (б) мкм; ведущий электролит: 10 мМ тетрабората натрия, 30 мМ ДДС, 10 % об. ацетонитрила; ввод пробы 30 мбар×10 с; рабочее напряжение: +25 кВ; детектирование 268 нм, температура 20 °С. Концентрация каждого компонента 10 (а) и 5 (б) мг/л)

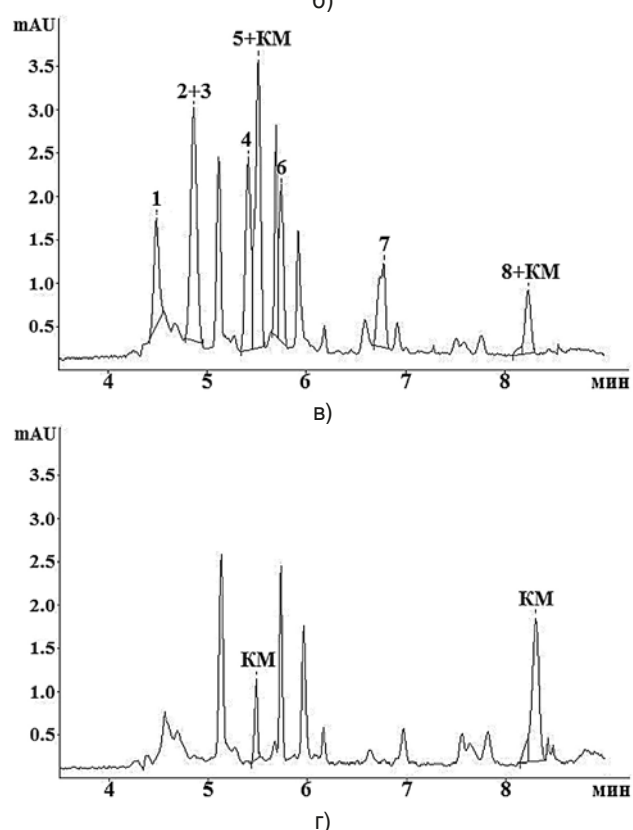


Рис. 3. Влияние внутреннего диаметра капилляра на эффективность электрофоретического разделения экстракта яблок с добавкой (а, в) и без добавки (б, в) неоникотиноидов до концентрации 1 мг/кг: капилляр 50 мкм – а, б, 75 мкм – в, г; 1 – динотефуран, 2 – нитенпирам, 3 – тиаклоприд, 4 – имидаклоприд, 5 – клотианидин, 6 – ацетамиприд, 7 – тиаметоксам, 8 – 6-хлорникотиновая кислота, КМ – компонент матрицы; (пробоподготовка: см. рис. 2)

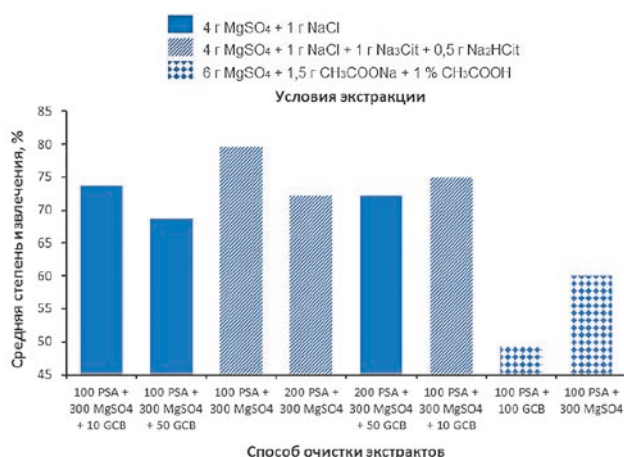


Рис. 2. Зависимость средней степени извлечения неоникотиноидов от условий экстракции и способа очистки ацетонитрильных экстрактов яблок (пробоподготовка: масса пробы 10 г, объем ацетонитрила 10 мл, добавка каждого пестицида до концентрации 1 мг/кг, очистка 2 мл экстракта, концентрирование 1 мл экстракта)

Выбор условий подготовки проб овощей и фруктов. В настоящее время метод QuEChERS получил широкое распространение при анализе различных продуктов питания: экстракцию проводят с использованием оригинального метода QuEChERS без буферного раствора и вариантов с ацетатным или цитратным буферным раствором [18]. Готовый экстракт анализируют методом ВЭЖХ-МС или ГХ-МС. В общем случае пробоподготовка QuEChERS включает два этапа: 1) экстракцию гомогенизированной пробы ацетонитрилом и 2) очистку полученного экстракта методом дисперсионной твердофазной экстракции (ДФЭ).

Фрукты. На примере семечковых плодов (яблок) оценены различные варианты проведения экстракции и очистки полученных экстрактов при определении неоникотиноидных инсектицидов (рис. 2).

Как следует из рис. 2, средняя степень извлечения неоникотиноидов была максимальной (80 %) при экстракции пробы ацетонитрилом с использованием смеси цитратов натрия и очистки 2 мл экстракта смесью 100 мг PSA и 300 мг MgSO_4 . Использование капилляра с внутренним диаметром 50 мкм позволяет уменьшить влияние растворимых в воде компонентов матрицы (рис. 3).

Овощи. Использование цитратного буферного раствора при экстракции и сульфата магния при очистке ацетонитрильных экстрактов овощей (моркови, свеклы) приводит к уменьшению степеней извлечения неоникотиноидов (рис. 4). Поскольку анализируемые продукты пигментированы, для проведения ДТФЭ применяли графитированную сажу. При экстракции пестицидов ацетонитрилом в присутствии 4 г MgSO_4 , 1 г NaCl с последующей очисткой 2 мл 100 мг PSA и 10 мг GCB средняя сте-

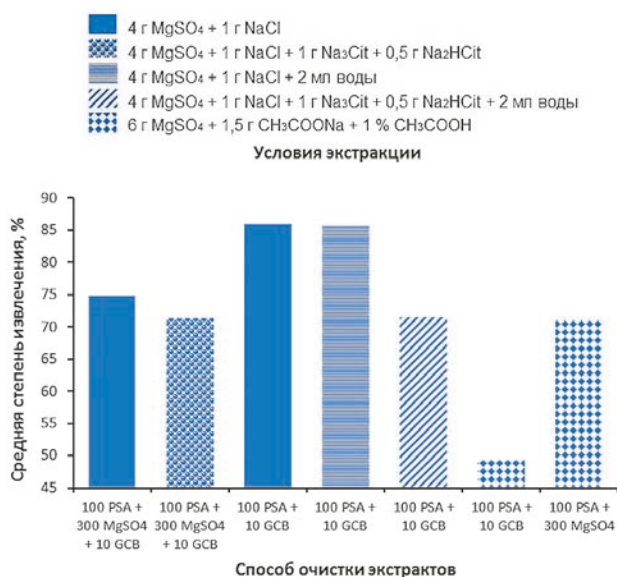


Рис. 4. Зависимость средней степени извлечения неоникотиноидов от условий экстракции и способа очистки ацетонитрильных экстрактов моркови (пробоподготовка: масса пробы 10 г, объем ацетонитрила 10 мл, добавка каждого пестицида до концентрации 1 мг/кг, очистка 2 мл экстракта, концентрирование 1 мл экстракта)

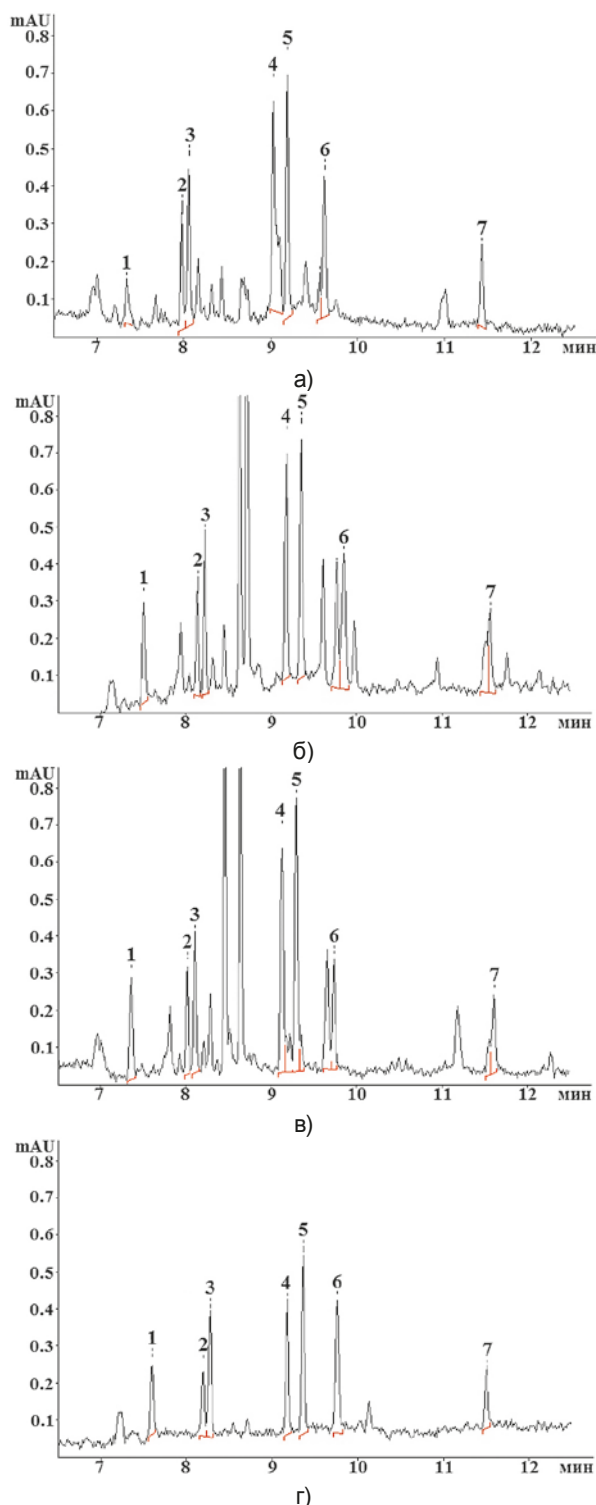


Рис. 5. Влияние условий проведения пробоподготовки QuEChERS на эффективность электрофоретического разделения экстрактов моркови с добавкой неоникотиноидов до концентрации 1 мг/кг (экстрагент, буферный раствор, сорбенты для очистки): а – ацетонитрил, ацетатный буферный раствор, 100 мг PSA + 10 мг GCB; б – ацетонитрил, 100 мг PSA + 300 мг MgSO_4 ; в – ацетонитрил, цитратный буферный раствор, 100 мг PSA + 300 мг MgSO_4 ; г – этилацетат, 100 мг PSA + 10 мг GCB; 1 – динотефуран, 2 – нитенпиром, 3 – тиаклоприд, 4 – имидаклоприд, 5 – клотианидин, 6 – ацетамиприд, 7 – тиаметоксам (пробоподготовка: масса пробы 10 г; объем растворителя 10 мл; очистка 2 мл экстрактов, концентрирование 1 мл экстракта)

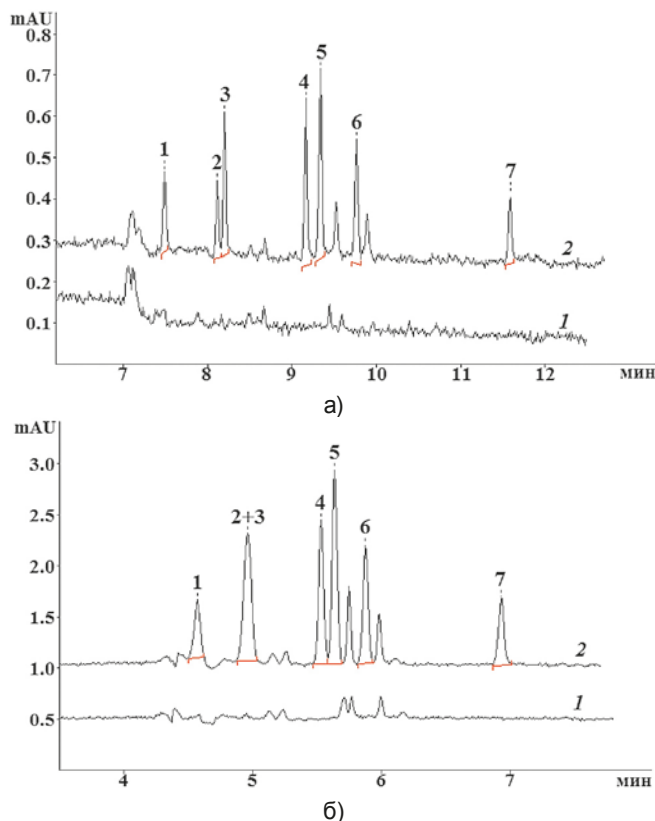


Рис. 6. Электрофореграммы экстрактов моркови после извлечения неоникотиноидов этилацетатом, полученные в капилляре с внутренним диаметром 50 мкм (а) и 75 мкм (б) в присутствии (2) и отсутствии (1) добавки пестицидов до концентрации 1 мг/кг: 1 – динотефуран, 2 – нитенпирам, 3 – тиаклоприд, 4 – имидаклоприд, 5 – клотианидин, 6 – ацетамиприд, 7 – тиаметоксам; (пробоподготовка: масса пробы 10 г; объем этилацетата 10 мл; очистка 2 мл экстрактов, концентрирование 1 мл экстракта)

пень извлечения аналитов составила 86 %: от (69 ± 3) % для тиаметоксама до (104 ± 16) % для ацетамиприда.

Оценена возможность применения этилацетата для экстракции неоникотиноидных инсектицидов из овощей (рис. 5): при его использовании подавляется созэкстракция нежелательных компонентов матрицы, что, с другой стороны, сопровождается

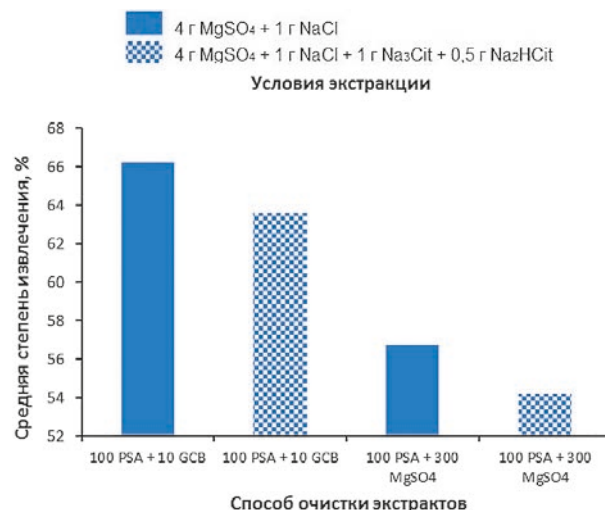


Рис. 7. Зависимость средней степени извлечения неоникотиноидов от условий экстракции и способа очистки экстрактов моркови (пробоподготовка: масса пробы 10 г, объем этилацетата 10 мл, добавка каждого пестицида до концентрации 1 мг/кг, очистка 2 мл экстракта, концентрирование 1 мл экстракта)

уменьшением степеней извлечения аналитов. Однако возможности данного варианта пробоподготовки QuEChERS позволяют проводить электрофоретическое разделение в капилляре с внутренним диаметром 75 мкм (рис. 6).

Извлечение инсектицидов в этом случае также зависит от условий экстракции и параметров очистки экстрактов: наиболее эффективно (степени извлечения составили в среднем 66 %) использование сорбентов PSA и GCB для очистки экстрактов полученных при извлечении неоникотиноидов этилацетатом в присутствии MgSO₄ и NaCl (рис. 7).

Для уменьшения пределов обнаружения и определения проводили концентрирование 2 мл экстракта. На примере подготовки проб яблок показано, что в этом случае происходит небольшая потеря аналитов (на 8–23 %), но существенное увеличение чувствительности определения (табл. 4).

Определение пестицидов в овощах и фруктах. В табл. 5 и табл. 6 приведены аналитические характеристики методики определения неонико-

Таблица 4

Влияние концентрируемого объема экстракта на степени извлечения и пределы определения неоникотиноидов в яблоках ($n = 3$, $P = 0.95$)

Пестициды	Объем экстракта для концентрирования					
	1 мл			2 мл		
	Степень извлечения, %	Предел обнаружения, мг/кг	Предел определения, мг/кг	Степень извлечения, %	Предел обнаружения, мг/кг	Предел определения, мг/кг
Динотефуран	89 ± 13	0.15	0.49	81 ± 8	0.08	0.27
Нитенпирам	76 ± 12	0.25	0.82	62 ± 12	0.15	0.50
Тиаклоприд	78 ± 10	0.22	0.72	70 ± 8	0.12	0.39
Имидаклоприд	87 ± 14	0.12	0.40	70 ± 4	0.07	0.25
Клотианидин	75 ± 9	0.14	0.46	67 ± 4	0.08	0.26
Ацетамиприд	77 ± 11	0.20	0.68	68 ± 11	0.12	0.38
Тиметоксам	91 ± 12	0.29	0.97	68 ± 13	0.20	0.65

Таблица 5

Аналитические характеристики методики определения неоникотиноидов в овощах и фруктах (капилляр 50 мкм, $n = 3$, $P = 0.95$)

№ п/п	Пестициды	Время миграции, мин	Уравнение градуировочной характеристики	R, %		Предел обнаружения, мг/кг		Предел определения, мг/кг	
				Фрукты	Овощи	Фрукты	Овощи	Фрукты	Овощи
1	Динотефуран	7.4 ± 0.4	$y = 8.1731 x$	81 ± 8	54 ± 5	0.08	0.12	0.27	0.40
2	Нитенпирам	8.1 ± 0.3	$y = 7.5667 x$	62 ± 12	38 ± 3	0.15	0.25	0.50	0.83
3	Тиаклоприд	8.2 ± 0.3	$y = 7.4631 x$	70 ± 8	76 ± 9	0.12	0.11	0.39	0.37
4	Имидаклоприд	9.2 ± 0.3	$y = 5.5090 x$	70 ± 4	65 ± 4	0.07	0.08	0.25	0.27
5	Клотианидин	9.3 ± 0.3	$y = 4.3410 x$	67 ± 4	62 ± 5	0.08	0.08	0.26	0.28
6	Ацетамиприд	9.8 ± 0.3	$y = 6.3475 x$	68 ± 11	66 ± 9	0.12	0.12	0.38	0.39
7	Тиаметоксам	11.7 ± 0.5	$y = 10.773 x$	68 ± 13	69 ± 9	0.20	0.19	0.65	0.63

Таблица 6

Аналитические характеристики методики определения неоникотиноидов в овощах (капилляр 75 мкм, $n = 3$, $P = 0.95$)

№ п/п	Пестициды	Время миграции, мин	Уравнение градуировочной характеристики	R, %	Предел обнаружения, мг/кг	Предел определения, мг/кг
1	Динотефуран	4.4 ± 0.2	$y = 7.107 x$	63 ± 1	0.03	0.10
2	Тиаклоприд + Нитенпирам	4.7 ± 0.3	$y = 8.868 x$	64 ± 3	0.04	0.12
3	Имидаклоприд	5.2 ± 0.3	$y = 4.975 x$	79 ± 8	0.01	0.04
4	Клотианидин	5.3 ± 0.3	$y = 4.391 x$	63 ± 4	0.02	0.05
5	Ацетамиприд	5.6 ± 0.3	$y = 6.278 x$	68 ± 6	0.02	0.08
6	Тиаметоксам	6.5 ± 0.4	$y = 11.86 x$	71 ± 3	0.04	0.13

Таблица 7

Результаты определения неоникотиноидов в овощах и фруктах ($n = 3$, $P = 0.95$)

№ п/п	Наименование продукта	Пестицид	Найдено, мг/кг	s_r	МДУ, мг/кг
1	Картофель	Нитенпирам	1.2 ± 0.1	0.04	нет данных
2	Картофель	Нитенпирам + тиаклоприд	0.10 ± 0.02	0.06	0.02 (тиаклоприд; для нитенпирама нет данных)
3	Яблоки	Клотианидин	0.21	-	0.05
4	Яблоки	Ацетамиприд	0.12	-	0.7

Примечание: для пестицидов, содержание которых находится между пределом обнаружения и пределом определения, результаты представлены без расчета доверительного интервала и относительного стандартного отклонения

тиноидов в овощах и фруктах. Градуировочные характеристики линейны в диапазоне 0.25-10 мг/л ($R^2 \geq 0.997$) для каждого пестицида. Пределы обнаружения (отношение сигнал/шум = 3) и определения (отношение сигнал/шум = 10) рассчитаны с учетом степеней извлечения: 62-81 % для фруктов (табл. 5), 38-76 % для овощей (табл. 5 и 6). Пределы определения (масса пробы – 10 г) варьируются от 0.25 до 0.65 мг/кг (табл. 5) и от 0.04 до 0.13 мг/кг (табл. 6) для фруктов и овощей соответственно.

При выбранных условиях пробоподготовки и электрофоретического разделения полученных экстрактов было проанализировано 20 проб овощей и фруктов отечественного и зарубежного производства. В четырех пробах были обнаружены определяемые пестициды: нитенпирам (совместно с тиаклопридом) в двух образцах картофеля, ацетамиприд и клотианидин в двух образцах красных яблок (табл. 7). Установлено превышение МДУ клотианидина в пробе № 3 (в таблице выделено полужирным шрифтом), результат анализа пробы

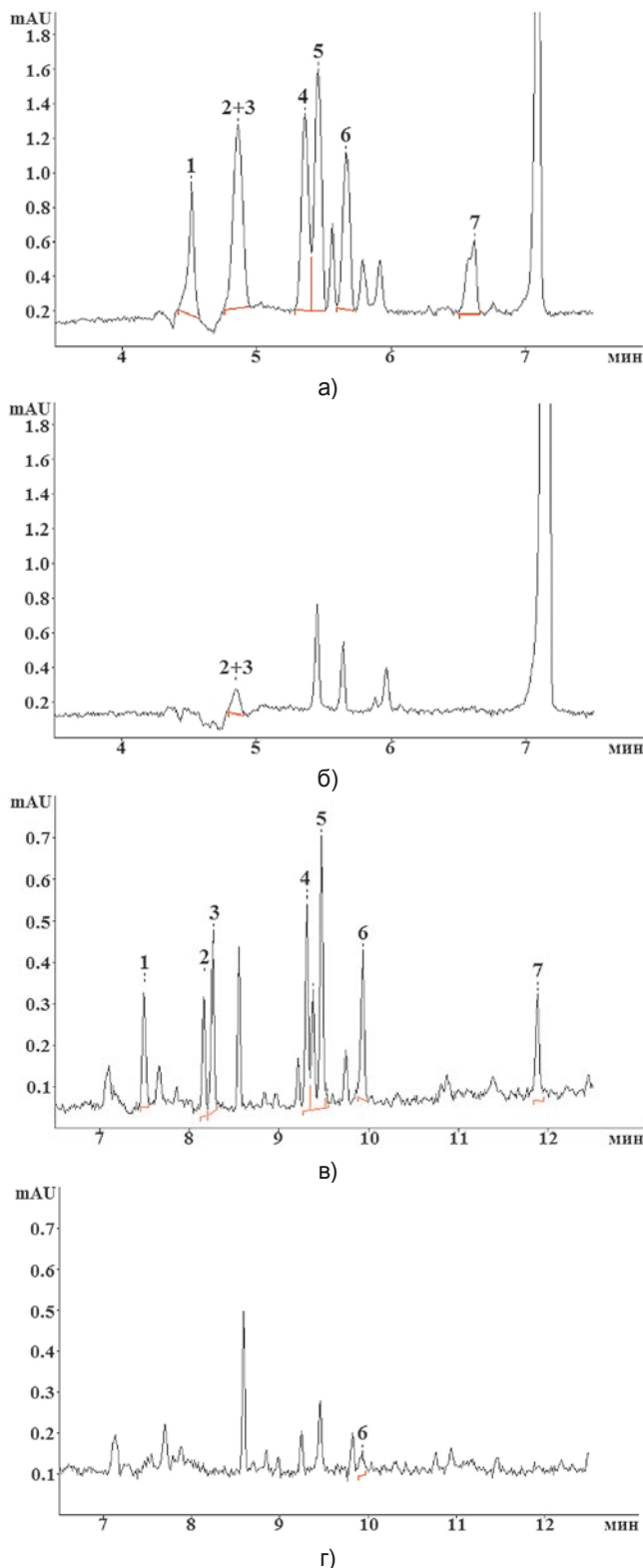


Рис. 8. Электрофореграммы экстрактов картофеля (а, б) и яблок (в, г) с добавкой (а, в) и без добавки (б, г) неоникотиноидов до концентрации 1 мг/кг: 1 – динотефур, 2 – нитенпирам, 3 – тиаклоприд, 4 – имидаклоприд, 5 – клотианидин, 6 – ацетамиприд, 7 – тиаметоксам

№ 2 является спорным, поскольку нитенпирам и тиаклоприд детектируются совместно при использовании капилляра с внутренним диаметром 75 мкм. Правильность выполнения анализа проверена методом «введено-найдено» с добавкой аналитов на

уровне 1.0 и 2.0 мг/кг. На рис. 8 представлены примеры полученных электрофореграмм экстрактов из картофеля и яблок.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе показана возможность совместного применения метода QuEChERS и мицеллярной электрокинетической хроматографии для определения неоникотиноидных инсектицидов в овощах и фруктах. Предложены различные условия экстракции (разные растворители, смеси солей) и анализа полученных экстрактов в немодифицированном кварцевом капилляре внутренним диаметром 50 и 75 мкм. Приведены результаты определения инсектицидов в некоторых овощах и фруктах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Application of a commercial immunoassay to the direct determination of insecticide imidacloprid in fruit juices / E. Watanabe [et al.] // *Food Chem.* 2007. V. 102. P. 745-750.
2. Quantitative analysis of the neonicotinoid insecticides imidacloprid and thiamethoxam in fruit juices by enzyme-linked immunosorbent assays / T. Xu [et al.] // *J. AOAC Int.* 2010. V. 93, № 1. P. 12-18.
3. Simultaneous determination of seven neonicotinoid pesticide residues in food by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry / S. Liu [et al.] // *J. Agric. Food. Chem.* 2010. V. 58. P. 3271-3278.
4. Chin-Chen M.L., Esteve-Romero J., Carda-Broch S. Determination of the insecticide imidacloprid in fruit juices using micellar high-performance liquid chromatography // *J. AOAC Int.* 2009. V. 92, № 5. P. 1551-1556.
5. Ведищева Д.В., Соболева И.Г. Изучение условий определения остаточных количеств неоникотиноидных инсектицидов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // *Сорбц. и хроматогр. процессы.* 2009. Т. 9, Вып. 1. С. 154-163.
6. Watanabe E., Baba K., Eun H. Simultaneous determination of neonicotinoid insecticides in agricultural samples by solid-phase extraction cleanup and liquid chromatography equipped with diode-array detection // *J. Agric. Food. Chem.* 2007. V. 55. P. 3798-3804.
7. Determination of neonicotinoid insecticides residues in bovine milk samples by solid-phase extraction clean-up and liquid chromatography with diode-array detection / S. Seccia [et al.] // *J. Chromatogr. A.* 2008. V. 1214. P. 115-120.
8. Determination of neonicotinoid pesticides residues in agricultural samples by solid-phase extraction combined with liquid chromatography–tandem mass spectrometry / W. Xie [et al.] // *J. Chromatogr. A.* 2011. V. 1218. P. 4426-4433.
9. Determination of imidacloprid, metalaxyl, myclobutanil, prothio, and thiamethoxam in fruits and vegetables by liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization–mass spectrometry / X. Pous [et al.] // *Fresenius J. Anal. Chem.* 2001. V. 371. P. 182-189.
10. Fernandez-Alba A.R., Tejedor A., Agüero A. Determination of imidacloprid and benzimidazole residues in fruits and vegetables by liquid chromatography–mass spectrometry after ethyl acetate multiresidue extraction // *J. AOAC Int.* 2000. V. 83, № 3. P. 748-755.
11. Determination of neonicotinoid pesticide residues in vegetables and fruits with solid phase extraction and liquid chro-

matography mass spectrometry / H. Obana [et al.] // *J. Agric. Food. Chem.* 2003. V. 51. P. 2501-2505.

12. Бельский Б.Г., Белов Ю.В., Касалайнен Г.Е. Высокоэффективный капиллярный электрофорез в экологическом мониторинге // *Журн. аналит. химии*. 1996. Т. 51, № 8. С. 817-834.

13. Комарова Н.В., Каменцев Я.С. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «Капель». СПб.: Веда, 2006. 212 с.

14. Determination of imidacloprid and its metabolite 6-chloronicotinic acid in greenhouse air by application of micellar electrokinetic capillary chromatography with solid-phase extraction / C.A. Segura [et al.] // *J. Chromatogr. A*. 2003. V. 1003. P. 189-195.

15. Амелин В.Г., Большаков Д.С., Третьяков А.В. Определение неоникотиноидов (имидаклоприда, тиаметоксама, ацетамиприда) в воде методом капиллярного электрофореза // *Вода: химия и экология*. 2012. № 9. С. 76-80.

16. Schenck F.J., Hobbs J.E. Evaluation of the quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe (QuEChERS) approach to pesticide residue analysis // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2004. V. 73, № 1. P. 24-30.

17. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and «dispersive solid-phase extraction» for the determination of pesticide residues in produce / M. Anastassiades [et al.] // *J. AOAC Int.* 2003. V. 86, № 2. P. 412-431.

18. Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables / S.J. Lehotay [et al.] // *J. Chromatogr. A*. 2010. V. 1217. P. 2548-2560.

REFERENCES

1. Watanabe E., Baba K., Eun H., Miyake S. Application of a commercial immunoassay to the direct determination of insecticide imidacloprid in fruit juices. *Food Chem.*, 2007, vol. 102, pp. 745-750. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.06.031.

2. Xu T., Wei K.Y., Wang J., Ma H.X., Li J. Quantitative analysis of the neonicotinoid insecticides imidacloprid and thiamethoxam in fruit juices by enzyme-linked immunosorbent assays. *J. AOAC Int.*, 2010, vol. 93, no. 1, pp. 12-18.

3. Liu S., Wei Z.Z.F., Ren Y., Gui W., Wu H., Zhu G. Simultaneous determination of seven neonicotinoid pesticide residues in food by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food. Chem.*, 2010, vol. 58, pp. 3271-3278. doi: 10.1021/jf904045j.

4. Chin-Chen M.L., Esteve-Romero J., Carda-Broch S. Determination of the insecticide imidacloprid in fruit juices using micellar high-performance liquid chromatography. *J. AOAC Int.*, 2009, vol. 92, no 5. pp. 1551-1556.

5. Vedishcheva D.V., Soboleva I.G. [Study of the conditions for trace quantities of neonicotinoid insecticide residues by high performance liquid chromatography]. *Sorbt. i khromatogr. protsessy* [Sorpt. and chromatogr. processes], 2009, vol. 9, no. 1, pp. 154-163 (in Russian).

6. Watanabe E., Baba K., Eun H. Simultaneous determination of neonicotinoid insecticides in agricultural samples by solid-phase extraction cleanup and liquid chromatography equipped with diode-array detection. *J. Agric. Food. Chem.*, 2007, vol. 55, pp. 3798-3804. doi: 10.1021/jf063140m.

7. Seccia S., Fidente P., Montesano D., Morrica P. Determination of neonicotinoid insecticides residues in bovine milk samples by solid-phase extraction clean-up and liquid chromatography with diode-array detection. *J. Chromatogr. A.*, 2008, vol. 1214, pp. 115-120. doi:10.1016/j.chroma.2008.10.088.

8. Xie W., Han C., Qian Y., Ding H., Chen X., Xi J. Determination of neonicotinoid pesticides residues in agricultural samples by solid-phase extraction combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.*, 2011, vol. 1218, pp. 4426-4433. doi:10.1016/j.chroma.2011.05.026.

9. Pous X., Ruiz M.J., Pico Y., Font G. Determination of imidacloprid, metalaxyl, myclobutanil, prothiofos, and thiabendazole in fruits and vegetables by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 2001, vol. 371, pp. 182-189. doi: 10.1007/s002160100946.

10. Fernandez-Alba A.R., Tejedor A., Agüera A. Determination of imidacloprid and benzimidazole residues in fruits and vegetables by liquid chromatography-mass spectrometry after ethyl acetate multiresidue extraction. *J. AOAC Int.*, 2000, vol. 83, no. 3, pp. 748-755.

11. Obana H., Okihashi M., Akutsu K., Kitagawa Y., Hori S. Determination of neonicotinoid pesticide residues in vegetables and fruits with solid phase extraction and liquid chromatography mass spectrometry. *J. Agric. Food. Chem.*, 2003, vol. 51, pp. 2501-2505. doi: 10.1021/jf0261102.

12. Belen'kii B.G., Belov Iu.V., Kasalainen G.E. [High-performance capillary electrophoresis on environmental monitoring]. *Z. Analit. Khimii*. [J. Anal. Chem.], 1996, vol. 51, no. 8, pp. 817-834 (in Russian).

13. Komarova N.V., Kamentsev I.A. *Prakticheskoe rukovodstvo po ispol'zovaniyu sistem kapillarnogo elektroforeza «Kapel'»* [Practical guidance on the use of capillary electrophoresis systems «Kapel'»]. St. Petersburg: «Veda», 2006, 212 p (in Russian).

14. Segura Carretero A., Cruces-Blanco C., Perez Duran S., Fernandez Gutierrez A. Determination of imidacloprid and its metabolite 6-chloronicotinic acid in greenhouse air by application of micellar electrokinetic capillary chromatography with solid-phase extraction. *J. Chromatogr. A.*, 2003, vol. 1003, pp. 189-195. doi: 10.1016/S0021-9673(03)00835-5.

15. Amelin V.G., Bol'shakov D.S., Tret'yakov A.V. [Determination of neonicotinoids (imidacloprid, thiamethoxam, acetamiprid) in water by capillary electrophoresis]. *Voda: khimiya i ekologiya* [Water: Chemistry and Ecology], 2012, no. 9, pp. 76-80 (in Russian).

16. Schenck F.J., Hobbs J.E. Evaluation of the quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe (QuEChERS) approach to pesticide residue analysis. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 2004, vol. 73, no. 1, pp. 24-30. doi: 10.1007/s00128-004-0388-y.

17. Anastassiades M., Lehotay S.J., Stajnbaher D., Schenck F.J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and «dispersive solid-phase extraction» for the determination of pesticide residues in produce. *J. AOAC Int.*, 2003, vol. 86, no. 2, pp. 412-431.

18. Lehotay S.J., Son K.A., Kwon H., Koesukwiwat U., Fu W., Mastovska K., Hoh E., Leepipatiboon N. Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *J. Chromatogr. A.*, 2010, vol. 1217, pp. 2548-2560. doi: 10.1016/j.chroma.2010.01.044..